

**Doktori (PhD) értekezés tézisei**

**A szívizom akciós potenciálját kialakító ionáramprofilok  
összehasonlítása és azok kalciumfüggése**

Dr. Kiss Dénes Zsolt

Témavezető: Prof. Dr. Magyar János



DEBRECENI EGYETEM  
Molekuláris Orvostudomány Doktori Iskola

Debrecen, 2022

# **A szívizom akciós potenciálját kialakító ionáramprofilok összehasonlítása és azok kalciumfüggése**

Értekezés a doktori (PhD) fokozat megszerzése érdekében  
az elméleti orvostudományok tudományágban

Írta: dr. Kiss Dénes Zsolt okleveles orvosdoktor

Készült a Debreceni Egyetem Molekuláris Orvostudomány doktori iskolája  
(Élettan és Neurobiológia programja) keretében

Témavezető: Prof. Dr. Magyar János, az MTA doktora

Az értekezés bírálói:

Prof. Dr. Papp Zoltán, az MTA doktora  
Dr. Nagy Norbert, PhD

A bírálóbizottság:

elnök: Prof. Dr. Szöllősi János, akadémikus  
tagok: Prof. Dr. Papp Zoltán, az MTA doktora  
Dr. Nagy Norbert, PhD  
Dr. Pórszász Róbert, PhD  
Dr. Zsembery Ákos, PhD

Az értekezés védésének időpontja:

Debreceni Egyetem ÁOK, In Vitro Diagnosztikai Tömb Előadóterme  
2022. június 27. 13:00

## **Bevezetés**

A szív és érrendszeri megbetegedések, azon belül is a malignus kamrai szívritmuszavarok továbbra is vezető szerepet töltenek be mind a hazai, mind pedig az európai mortalitási mutatókban. Annak ellenére, hogy a szívritmuszavarok kialakulásával és kezelésével foglalkozó aritmológia a belgyógyászat és a kardiológia kiemelt területévé vált, sok esetben a legmodernebb, legkorszerűbb gyógyszeres és eszközös terápiás törekvések ellenére sem tudjuk megelőzni a szívritmuszavarok kialakulását és a hirtelen szívhalált. Ezért a legtöbbször hirtelen fellépő, gyakran halálos kimenetelű betegségeknek a kezeléséhez elengedhetetlen, hogy a betegségek élettani és kórélettani hátterét minél jobban megismerjük.

A kamrai szívizomsejtek akciós potenciálja (AP) egymással finom összhangban működő számos ionáram működésének eredménye. Az akciós potenciál során a membránpotenciál értéke milliszekundumos tartományban folyamatosan változik, melynek hatására az ioncsatornák aktiválódnak, inaktiválódnak vagy deaktiválódnak. Ezeknek az ionáramoknak a nagysága és iránya függ az ionok elektrokémiai gradiensétől, a csatornák kapuzási kinetikájától, ami feszültség és időfüggő.

Számos közlemény foglalkozik az akciós potenciált kialakító csatornák elektrofiziológiai sajátágaival, azonban ezek az eredmények elsősorban hagyományos feszültség-clamp technikával végzett kísérletekből származnak. A hagyományos feszültség-clamp technika során négyszögimpulzusokat használunk az ioncsatornák aktiválására. Ezzel szemben, fiziológias körülmények között, a sejt membránpotenciálja az akciós potenciál során pillanatról-pillanatra változik, így az ionáramok akciós potenciál alatti áramprofilja jelentősen eltérhet a négyszögimpulzusok alatt regisztráltaktól. Az akciós potenciál alatti áramprofilok vizsgálatára Fischmeister és munkatársai kifejlesztették az ún. akciós potenciál feszültség-clamp (APVC) technikát. Az akciós potenciál feszültség-clamp lényege, hogy az elektrofiziológiai mérés során parancsjelként

négyszögimpulzus helyett akciós potenciált — vagy a sejt saját akciós potenciálját, vagy egy előre regisztrált kanonikus akciós potenciált — alkalmazunk, ezzel modellezve még jobban az in vivo körülményeket.

További előrelépést jelentett az ún. onion peeling módszer bevezetése, mely azt teszi lehetővé, hogy ugyanazon a sejten több ioncsatorna működését tanulmányozhassuk az akciós potenciál feszültség-clamp technika segítségével.

Patológias körülmények között megváltozhat az ioncsatornák szabályozása, expressziós mintázata, illetve különböző gyógyszerek gátolhatják, vagy serkenthetik működésüket, ami ritmuszavarok kialakulásához vezethet. Ezen elváltozások, azon túl, hogy változatos klinikai kórképekben mutatkozhatnak meg, a szív- és érrendszeren kívül több szervrendszert is érinthetnek.

Az ionáramok közötti összefüggések, kapcsolatok kevésbé ismertek, ugyanakkor a ritmuszavarok adekvát kezeléséhez elengedhetetlen, hogy ismerjük az egyes ionkonduktanciák akciós potenciál alatti profilját, az ionáramok közötti korrelációkat. Ezen összefüggések feltárása új fejezetet nyithat a szívritmuszavarok kezelésében.

## Célkitűzés

Számos kutatás vizsgálta a szívműködés ionáramait, azonban ezek a publikált eredmények egyrészt ellentmondásosak, másrészt a mérések döntően hagyományos feszültség-clamp technikával történtek, sokszor az élettani körülményektől jelentősen eltérő viszonyok között (szobahőmérséklet, eltérő ionösszetétel). Ezért munkánk során a célkitűzéseink a következők voltak:

- Vizsgáljuk az akciós potenciál kialakításában résztvevő különböző ionáramok egymáshoz való viszonyát az *in vivo* körülményeket jól modellező akciós potenciál feszültség-clamp körülmények között.
- Tanulmányozzuk az akciós potenciál kialakításában résztvevő depolarizáló és repolarizáló áramok paramétereinek közötti korrelációkat.
- Fiziológiai körülmények között vizsgáljuk az akciós potenciál terminális repolarizációjának eseményeit, valamint a repolarizációban részt vevő ionáramok ( $I_{K1}$ ,  $I_{Kr}$ ,  $I_{Ks}$ ) és a késői nátriumáram ( $I_{Na,L}$ ) kalciumfüggését.

## **Anyagok és módszerek**

### *Szívizomsejtek izolálása*

A kutatás során kutyák szívének bal kamrájából enzimatis emésztéssel nyert szívizomsejteken dolgoztunk. A szívizomsejteket kísérleti célra tenyésztett, ivarérett, vegyes nemű kutyák szívéből izoláltuk kollagenáz enzim segítségével. A sejtizolálás során az ún. anterográd szegmens-perfúziós technikát alkalmaztuk. Minden elvégzett kísérlet összhangban volt a „Guide for the Care and Use of Laboratoy Animals” és a Helsinki Deklaráció alapelveivel. A kísérleti protokollt a Debreceni Egyetem Munkahelyi Állatetikai Bizottsága is jóváhagyta.

### *Elektrofiziológia*

A transzmembrán ionáram mérések a patch-clamp technika teljes sejtes konfigurációjában, feszültség-clamp és akciós potenciál feszültség-clamp körülmények között történtek. Az akciós potenciál-clamp technika egy olyan speciális elektrofiziológiai módszer, melynek során a sejtet négyszögimpulzus helyett egy akciós potenciállal stimuláljuk. Kísérleteink során egy előre regisztrált, úgynevezett kanonikus akciós potenciált használtunk parancsjelként. Az akciós potenciál-clamp technika módszer lényege röviden a következő: feszültség-clamp körülmények között, az akciós potenciált használva parancsjelként, közel nulla áramot mérhetünk, ezt tekintjük referencia áramnak. A vizsgálni kívánt ionáram specifikus gátlószerét alkalmazva a gátolt ioncsatorna működését az erősítőnek kell pótolnia, ami így negatív előjellel az ún. kompenzációs áramot eredményezi. A kompenzációs áramot kivonva a referencia-áramból megkapjuk az akciós potenciál alatt folyó, hatóanyag-szenzitív ionáramot.

Az akciós potenciál feszültség-clamp mérések során az ún. onion-peeling módszert alkalmazva lehetőség van több ionáram akciós potenciál alatti vizsgálatára ugyanazon a szívizomsejten. Az onion-peeling módszer lényege, hogy a sejtet kumulatív módon, különböző ioncsatornák specifikus gátlószerét

tartalmazó oldattal perfundáljuk. Az oldatok sorrendje fontos, hiszen a legspecifikusabb gátlószert kell először alkalmazni, hogy egy kevésbé szelektív csatornagátló ne hamisítsa meg a mérési eredményeinket. Ezért a vizsgált ionáramok sorrendje a következő volt: 1. késői nátriumáram ( $I_{Na,L}$ ); 2. nátrium-kalcium csereáram ( $I_{NCX}$ ); 3. L-típusú kalciumáram ( $I_{Ca,L}$ ); 4. késői egyenirányító káliumáram gyors komponense ( $I_{Kr}$ ); 5. késői egyenirányító káliumáram lassú komponense ( $I_{Ks}$ ); 6. befelé egyenirányító káliumáram ( $I_{K1}$ ).

A szívizomsejtek transzmembrán potenciál változásait boroszilikát kapillárisból készített nagy ellenállású (20-40 M $\Omega$ ) hegyes mikroelektrodával mértük.

A kísérleteinket minden esetben 37 °C-on végeztük.

#### *Intracelluláris $Ca^{2+}$ koncentráció és sejtrövidülés mérése*

Az intracelluláris  $Ca^{2+}$  koncentráció változásait egy kalcium érzékeny fluorescens festék, a FURA-2-AM alkalmazásával tettük láthatóvá.

A mérések során a sejtek stimulációjához platina elektródokat alkalmaztunk. A kalcium tranzienseket egy alternáló, kettős sugárgerjesztésű fluoreszcens segítségével mértük. A fluoreszcens festéket 340 nm, és 380 nm hullámhosszú fényel gerjesztettük, a fluoreszcens fény intenzitását 510 nm-en mértük. Az intracelluláris kalcium koncentrációra a két különböző gerjesztési hullámhossz alkalmazása után mért fluoreszcens fény intenzitásának a hányadosából következtetünk.

A szívizomsejtek sejthossz rövidülését optikai módszerrel rögzítettük. A szívizomsejteket platinaelektrodok segítségével stimuláltuk. A kísérletekhez egy speciális, a sejtek szélét érzékelő kamerát alkalmaztunk. A sejthossz rövidülést minden esetben a kiindulási diasztolés sejthosszhoz viszonyítva fejeztük ki (frakcionált rövidülés).

Az intracelluláris kalcium koncentráció és a sejthossz rövidülés mérését minden esetben 37 °C-on végeztük

### *Statisztikai elemzés*

A dolgozatban szereplő adatok a kísérleti eredmények számtani középértékei  $\pm$  a középértékek körüli standard hiba. A csoportok közötti statisztikai szignifikanciát egyszempontos varianciaanalízissel, majd Student-féle t-próbával vizsgáltuk. Két változó közötti korreláció vizsgálatához korrelációanalízist végeztünk, a korrelációkat Pearson-féle korrelációs koefficienssel ( $r$ ), és az egyenes meredekségével ( $m$ ) fejeztük ki. A korrelációs koefficienssek és meredekségek közti szignifikanciát, szintén Student-féle t-próbával vizsgáltuk. A különbségeket és a korrelációkat szignifikánsnak tekintettük azokban az esetekben, amikor a  $p$  érték kisebb volt, mint 0,05.

## **Eredmények**

### *A szívizomsejtek főbb ionáramprofiljainak meghatározása*

A szívizomsejtek főbb depolarizáló és repolarizáló ionáramainak vizsgálata során első lépésként akciós potenciál feszültség clamp módszer segítségével meghatároztuk a vizsgált ionáramok profilját, fiziológias körülmények között. A kísérletek során az ionáramok farmakológiai szeparálásához az onion peeling módszert alkalmaztuk. Az áramjelek analízise során meghatároztuk az áramamplitúdót, az ionáramok által szállított töltésmennyiséget, és a plató fázis közepén mérhető áramdenzitást. Az áram amplitúdójának az áramjel csúcsértékét tekintettük, az áramok által szállított töltés mennyiségét pedig a nulla vonalhoz viszonyított görbe alatti területként definiáltuk. A plató közepi áramdenzitást a 90%-os repolarizációhoz tartozó akciós potenciál időtartam ( $APD_{90}$ ) felénél mért áramdenzitásként határoztuk meg. Megállapítottuk, hogy a depolarizáló (inward) áramok közül a legnagyobb görbe alatti területtel az  $I_{Ca,L}$  rendelkezett, mely  $-72,2 \pm 6,0$  mC/F töltést szállított. Ezt követte sorban a  $I_{NCX}$ ,  $-37,3 \pm 2,5$  mC/F, a  $I_{Na,L}$  által szállított töltés mennyisége pedig  $-27,7 \pm 2,3$  mC/F volt. A repolarizáló (outward) áramok esetében a legnagyobbak a  $I_{K1}$  adódott ( $64,9 \pm 3,9$  mC/F), melyet a  $I_{Kr}$  ( $34,1 \pm 3,9$  mC/F) majd a  $I_{Ks}$  ( $15,6 \pm 1,3$  mC/F) követett. Az áramamplitúdókat összevetve szintén hasonló sorrendet kaptunk. Legnagyobb amplitúdója az L-típusú kalciumáramnak volt,  $-1,01 \pm 0,09$  A/F. Ettől kisebbnek bizonyult a  $I_{NCX}$  és a  $I_{Na,L}$ , melyek amplitúdói rendre  $-0,57 \pm 0,09$  A/F és  $-0,43 \pm 0,09$  A/F voltak. A repolarizáló áramokat vizsgálva, a legnagyobb amplitúdót a  $I_{K1}$  esetében mértük  $1,75 \pm 0,10$  A/F. Ezt követte a  $I_{Kr}$ , melynek legnagyobb áramsűrűsége  $0,46 \pm 0,02$  A/F volt. A legkisebb amplitúdójú áramnak a  $I_{Ks}$  bizonyult,  $0,20 \pm 0,02$  A/F.

Összehasonlítottuk az ionáramok plató fázis közepén mérhető áramsűrűségét is. Az inward áramok közül, az akciós potenciál plató fázisának közepén, az  $I_{Ca,L}$ -nak volt a legnagyobb az amplitúdója, ( $-0,44 \pm 0,03$  A/F), ettől kisebb értéket mértünk a  $I_{NCX}$  esetében, ahol ez az érték  $-0,17 \pm 0,03$  A/F volt. A

$I_{Na,L}$  plató közepén mért denzitása  $-0,19 \pm 0,02$  A/F-nak adódott. Az outward áramok esetén, a plató közepén a legnagyobb áramnak a  $I_{Kr}$  bizonyult, melynek áramdenzitása  $0,13 \pm 0,02$  A/F volt. Ezt követte a sorban a  $I_{Ks}$ , mely esetén  $0,08 \pm 0,02$  A/F denzitást mértünk. A plató közepén mérve, a legkisebb amplitúdójú áram a  $I_{Kl}$  ( $0,06 \pm 0,01$  A/F).

#### *Korrelációk a szívizomsejtek főbb ionáramainak paramétereit között*

Munkánk során tanulmányoztuk, hogy az ionáramoknak az előző fejezetben bemutatott paramétereit hogyan korrelálnak egymással. Elsőként az outward áramok paramétereit hasonlítottuk össze egymással. Az outward áramok által szállított töltés mennyiség értékei között nem találtunk szignifikáns korrelációt. Az outward áramokkal ellentétben, az inward  $I_{NCX}$  és az  $I_{Ca,L}$  által szállított töltésmennyiség összehasonlításakor, a Pearson-koefficiens  $0,75$ -nek adódott, mely arra utal, hogy a két áram által szállított töltés mennyisége szignifikánsan korrelál egymással. Nem találtunk szignifikáns különbséget az inward áramoknak a plató közepén mért áramdenzitása és az áramamplitúdója között. Az inward és az outward áramok paramétereit egyenként, egymással is összehasonlítottuk. Szignifikáns kapcsolatot találtunk — némileg meglepő módon — az  $I_{Ca,L}$  és a  $I_{Kr}$  paramétereit között, így ezen ionáramok amplitúdója, a plató közepén mért denzitása és az áramok által szállított töltésmennyiség esetében is. Ezen felül azt találtuk, hogy az inward és az outward áramok által együttesen szállított töltés mennyiség között szintén szignifikáns korreláció áll fenn.

#### *A terminális repolarizáció ionprofiljainak idő- és kalciumfüggése*

Megvizsgáltuk az akciós potenciál terminális repolarizációjában közreműködő ionáramokat, azok időbeli lefutását, és meghatároztuk az akciós potenciál maximális repolarizációs sebességét ( $V_{max}^-$ ). Ez utóbbi paraméter megfelel a membránon átfolyó nettó áramnak ( $I_{net}$ ) a terminális repolarizáció

során, mely a membránpotenciál értékének idő szerinti első deriváltjaként definiálható.

Megfigyeltük, hogy annak ellenére, hogy a  $I_{Kr}$  amplitúdói jelentősen kisebbek voltak, mint a  $I_{K1}$ -é, a  $I_{Kr}$  időben előbb, egy kevésbé negatív membránpotenciál értéknél érte el a maximumát. Így a  $I_{Kr}$  legnagyobb kitérését a  $V_{max}^-$ -hoz képest 11 ms-mal előbb, a  $I_{K1}$  pedig 3,5 ms-al később érte el. Ezek alapján feltételezzük, hogy a terminális repolarizáció elindításáért, és így az akciós potenciál hosszának meghatározásáért a  $I_{Kr}$  lehet a felelős. Az AP időtartama természetesen valamennyi repolarizáló káliumáram függvénye, de az eredményeink arra utalnak, hogy fiziológias körülmények között a  $I_{K1}$  ezt csak kisebb mértékben befolyásolhatja.

Vizsgáltuk a repolarizációban részt vevő főbb ionáramok kalciumfüggését is. Az onion-peeling mérések során az ionáramok elkülönítése minden esetben az inward áramokkal kezdődött, így az általunk vizsgált összes outward, repolarizáló áram mérése az inward áramok gátlószereinek ( $1\mu\text{mol/liter GS-967} + 0,5\mu\text{mol/liter ORM-10962} + 1\mu\text{mol/liter nizodipin}$ ) jelenlétében történt. A nizodipin gátolta az L-típusú kalcium csatornákat, így ezen mérések során mind a szubmembrán tér, mind pedig a teljes citoplazma kalciumkoncentrációja kisebb volt, a nizodipin mentes oldattal perfundált szívizomsejtekhez képest. További kísérleteinket olyan szívizomsejteken végeztük, ahol nem gátoltuk az  $I_{Ca,L}$ -t, így szabad kalciumciklus mellett vizsgálhattuk az outward áramokat. Az akciós potenciál feszültség-clamp mérések során három káliumáramot ( $I_{Kr}$ ,  $I_{Ks}$ ,  $I_{K1}$ ) vizsgáltunk az onion-peeling módszer segítségével, a kalciumáramok módosítása nélkül.

Megállapítottuk, hogy a késői egyenirányító káliumáram lassú komponense ( $I_{Ks}$ ) jelentős kalciumfüggést mutatott, az áram profiljában pedig jelentős, kalciumfüggő változásokat figyeltünk meg. A szabad kalciumciklus mellett mért eredményekhez képest, gátolt  $I_{Ca,L}$  esetén szignifikánsan csökkent a  $I_{Ks}$  maximális

áramdenzitása, a plató közepén mért denzitása illetve az áram által szállított töltés mennyisége is. Megfigyeltük továbbá, hogy gátolt  $I_{Ca,L}$  mellett a  $I_{Ks}$  az akciós potenciál felszálló szarától mérve szignifikánsan később érte el az áramcsúcsát, mint szabad kalciumciklus mellett. A  $I_{Ks}$ -vel ellentétben sem a  $I_{Kr}$ , sem pedig a  $I_{K1}$  esetében nem tapasztaltunk szignifikáns különbséget egyik vizsgált paraméter esetében sem gátolt és szabad kalciumciklus mellett.

### *Az ionáramok gátlásának hatása a szívműködés intracelluláris kalciumtranzienseire*

A késői nátriumáram, a nátrium-kalcium csereáram, illetve az L-típusú kalciumáram gátlásának intracelluláris kalcium koncentrációra kifejtett hatását is vizsgáltuk. Az intracelluláris kalciumkoncentráció változásaira a sejtek kalciumtranziensei alapján következtettünk. Megállapítottuk, hogy sem a  $I_{Na,L}$  sem a  $I_{NCX}$  gátlása nem változtatta meg szignifikánsan a diasztolés és szisztolés fluoreszcens hányados értékét. Az intracelluláris  $Ca^{2+}$  tranziensek amplitúdói (a szisztole és a diasztole során mért fluoreszcens hányados értékének különbsége) szignifikánsan,  $0,40 \pm 0,05$ -ről  $0,23 \pm 0,03$ -ra csökkentek a késői nátriumáram gátlószerének, a GS-967-nek hatására. A GS-967 után kumulatív módon alkalmazott ORM-10962 ( $I_{NCX}$  gátlószer) nem idézett elő további csökkenést a  $Ca^{2+}$  tranziensekben.

Mivel a nifedipin UV fény hatására pillanatok alatt elbomlik, így a  $Ca^{2+}$  tranziens mérésével nem tudtuk tanulmányozni a nifedipin intracelluláris kalcium koncentrációra kifejtett hatását, ezért más módszert kellett alkalmazni, a sejtrövidülést választottuk indikátornak. Megállapítottuk, hogy a nyugalmi, diasztolés sejthossz nem változott szignifikánsan  $1 \mu\text{mol/liter}$  nifedipin hatására. A szisztolés sejthossz azonban szignifikánsan nagyobb volt a nifedipinnel kezelt sejteken, mint a kezeletlen, szabad kalciumciklusú sejtek esetén. A szívműködés frakcionált rövidülése pedig közel nullára csökkent  $1 \mu\text{mol/liter}$  nifedipin hatására. Ez az eredmény arra enged következtetni, hogy a maximális

intracelluláris  $\text{Ca}^{2+}$ -koncentráció is jelentősen csökken a nizoldipin alkalmazását követően.

#### *A késői nátriumáram kalciumfüggése*

A késői nátriumáramot szintén akciós potenciál feszültség-clamp technikával vizsgáltuk. Az áram megjelenítéséhez két különböző, szelektív nátriumcsatorna blokkoló szert alkalmaztunk: 1  $\mu\text{mol/liter}$  GS-967 és 10  $\mu\text{mol/liter}$  tetrodotoxin (TTX). Megállapítottuk, hogy a két gátlószerrel kapott áramprofil alakja nagymértékben hasonló volt.

A  $I_{\text{Na,L}}$  kalciumfüggését úgy vizsgáltuk, hogy előzetesen 1  $\mu\text{mol/liter}$  nizoldipinnel gátoltuk az L-típusú kalciumáramot. Nizoldipin hatására szignifikánsan csökkent mind a GS-967-szenzitív, mind pedig a TTX-szenzitív áramnak a plató közepén mért denzitása. A szállított töltésmennyiség esetén a nizoldipin csak a GS-967-szenzitív áramnál idézett elő szignifikáns csökkenést.

Ez az eredmény arra utalhat, hogy az általunk alkalmazott 1  $\mu\text{mol/liter}$  GS-967 nem teljesen szelektív, a GS967-szenzitív áram a  $I_{\text{Na,L}}$  mellett az  $I_{\text{Ca,L}}$  egy kis frakcióját is tartalmazza. További lehetőség, hogy az intracelluláris kalciumkoncentráció változtatása modulálhatja a  $I_{\text{Na,L}}$  működését. Ennek eldöntésére hagyományos feszültség-clamp technikával megvizsgáltuk a GS-967 hatását az L-típusú kalciumáramra.

Megállapítottuk, hogy sem az  $I_{\text{Ca,L}}$  maximális amplitúdója, sem az 50 ms-al az áramjel kezdete után mért áramdenzitás nem változott szignifikánsan 1  $\mu\text{M}$  GS-967 hatására. Nem tapasztaltunk változást az áram által szállított töltésmennyiségében sem. Ezen eredmények alapján elvethető az a feltételezésünk, hogy az akciós potenciál feszültség-clamp mérések során regisztrált GS-szenzitív ionáram a késői nátriumáram mellett kalciumáramot is tartalmaz. Ez egyben azt is jelenti, hogy a bemutatott eredmények háttérében a késői nátriumáram kalciumfüggő viselkedése áll. Ennek igazolására újabb kísérleteket végeztünk,

ahol az intracelluláris kalciumkoncentrációt egy kalcium kelátor (BAPTA) segítségével csökkentettük.

Megállapítottuk, hogy BAPTA jelenlétében, a plató fázis felénél mért késői nátriumáram denzitása és az áram által szállított töltés mennyisége szignifikánsan alacsonyabb volt, mint kontroll körülmények között.

A GS-967 szenzitív áramként definiált késői nátriumáram kalciumfüggő viselkedését akciós potenciál méréssel is bizonyítottuk. Az izolált szívizomsejtek akciós potenciálját hegyes mikroelektrodával mértük. Megállapítottuk, hogy 1  $\mu\text{mol/liter}$  GS967 hatására szignifikánsan rövidült az akciós potenciál időtartama ( $\text{APD}_{90}$ ) ( $n=12$ ,  $p<0,05$ ). Ez a jelenség fordított frekvenciafüggést mutatott, nevezetesen az  $\text{APD}_{90}$  csökkenés mértéke kisebb volt a stimuláló impulzusok frekvenciájának növelésével. Ezen felül plató felénél mért amplitúdó is szignifikánsan csökkent a GS-967 hatására. A GS-967 által kiváltott plató amplitúdó csökkenés szignifikánsan kisebb volt abban az esetben, amikor a sejteket előzetesen 5  $\mu\text{mol/liter}$  BAPTA-AM-mel kezeltük. Ezzel szemben a GS-967  $\text{APD}_{90}$  rövidítő hatását nem befolyásolta a BAPTA-AM-mel történő előkezelés.

A BAPTA-AM hatása erős frekvenciafüggést mutatott: az  $\text{APD}_{90}$  szignifikánsan megnőtt magasabb ingerlési ciklushossz mellett (alacsonyabb frekvenciánál), alacsonyabb ingerlési ciklushosszok esetén pedig nem tapasztaltunk jelentős változást.

Eredményeink alapján feltételezhető, hogy a GS-967 jelenlétében megfigyelt „plató-depresszió”, ami a  $I_{\text{Na,L}}$  csökkenésének tulajdonítható, kalciumfüggést mutat, mivel csak szabad kalciumciklus mellett tapasztaltuk. Némileg meglepő módon az  $\text{APD}_{90}$  rövidülés a GS-967 hatására hasonló volt BAPTA-AM jelenlétében és anélkül. Ennek háttérében a BAPTA-AM  $\text{APD}_{90}$ -et nyújtó hatását feltételezzük. Mivel több szívre ható gyógyszer  $\text{APD}_{90}$ -re gyakorolt hatása arányos a kiindulási  $\text{APD}_{90}$  értékkel, ez kompenzálhatja az előzetesen várt,

GS-967 által kiváltott APD<sub>90</sub> rövidülést a BAPTA-AM-mel történő előkezelést követően.

#### *A CaMKII útvonal szerepe a I<sub>Na,L</sub> szabályozásában*

Az irodalomból ismert, hogy az egyes ionáramok kalciumfüggő regulációja a CaMKII-útvonal működéséhez kapcsolódik. Ezért a további kísérleteink során vizsgáltuk a CaMKII szerepét a késői nátriumáram szabályozásában. Kísérleteink során a pipetta belső oldatát a CaMKII útvonal specifikus gátlószereként ismert KN-93-mal egészítettük ki (1  $\mu$ mol/liter). Megállapítottuk, hogy a plató felénél mért áramdenzitás szignifikánsan kisebb volt KN-93 alkalmazása mellett, mint a kontroll csoportban. Az áram által szállított töltés mennyisége csökken ugyan KN-93 hatására, de ez a különbség nem bizonyult szignifikánsnak.

A KN-93 alkalmazása mellett mért eredményeinket összevetettük a nizoldipinnel, illetve a BAPTA-val kapott értékekkel és a következőt találtuk: sem plató felénél mért áramsűrűség (-0,28 $\pm$ 0,04, -0,29 $\pm$ 0,04 és -0,30 $\pm$ 0,03 A/F), sem pedig az áram által szállított töltésmennyiség (-54,6 $\pm$ 9,9, -48,2 $\pm$ 3,6 és -46,7 $\pm$ 5,2 mC/F) nem különbözött szignifikánsan. Eredményeink alapján valószínű, hogy nizoldipin, illetve BAPTA jelenlétében a CaMKII aktivitása csökken, ami magyarázhatja, hogy ezen kísérleteknél a normál kalciumhomeosztázis mellett mért áramhoz viszonyítva a I<sub>Na,L</sub> szignifikánsan kisebb.

A szabad kalmodulin hatását is teszteltük a késői nátriumáram paramétereire. Megállapítottuk, hogy a szabad kalmodulin nem változtatja meg szignifikánsan a késői nátriumáram áramsűrűségét és az általa szállított töltés mennyiségét.

## Megbeszélés

Elsőként írtuk le – a humán szív legjobb elektrofiziológiai modelljének tartott kutyaszíven – az akciós potenciál kialakításában részt vevő ionáramok paraméterei, az ionáramok által szállított töltésmennyiség és az áramok amplitúdója közötti összefüggéseket. Kísérletsorozatunk abban is egyedülálló, hogy méréseinket a fiziológiás körülményeket jól modellező akciós potenciál feszültség-clamp technikával végeztük, az ionáramok szeparálására az onion-peeling eljárást alkalmaztuk, mely lehetővé teszi, hogy ugyanazon a szívizomsejten hasonlítsuk össze a különböző ionáramokat. Ugyancsak elsőként írtuk le a  $I_{Ks}$  és a  $I_{Na,L}$  kalciumfüggését kutya kamrai szívizomsejteken.

*Az akciós potenciál kialakításában részt vevő ionáramok paraméterei közötti korrelációk és azok jelentősége szívizomsejteken*

Az inward ionáramok paramétereit összevetve megállapítottuk, hogy az  $I_{Ca,L}$  és a  $I_{NCX}$  által szállított töltésmennyiség szignifikáns korrelációt mutat, ugyanakkor a többi depolarizáló ionáramot összevetve nem találtunk jelentős kapcsolatot.

Az ionáramok működése alapján azt vártuk, hogy a  $I_{Na,L}$  és a  $I_{NCX}$  paraméterei között is szoros korreláció áll fenn, hiszen a belépő nátrium mennyiségének változása módosítja a  $I_{NCX}$  funkcióját az egyensúlyi potenciál és a nátrium terhelés változása révén. Azonban az  $I_{Ca,L}$  és a  $I_{NCX}$  között tapasztalt szignifikáns korrelációval szemben, a Pearson féle korrelációs vizsgálattal nem találtunk szignifikáns kapcsolatot a  $I_{Na,L}$  és a  $I_{NCX}$  által szállított töltésmennyiségek között. Ennek az elhet a magyarázata, hogy az egészséges, stimulált szívizomsejtek nátriumbelépéséért csupán körülbelül 22%-ban felelősek a nátriumcsatornák (ennek is kb. fele a késői nátriumáram), ezzel szemben, a nátrium-kalcium cserélő forward módja, körülbelül 60%-ban felelős a szívizomsejtek nátriumbeáramlásáért. Ezek alapján feltételezhető, hogy az egészséges szívizomsejtek nátriumháztartása elsősorban a sejtbe belépő- és ilyen

módon a  $I_{NCX}$  által eltávolított  $Ca^{2+}$  mennyiségétől függ. Ezenfelül a sejten belüli  $Na^+$ -homeosztázisban bekövetkező változásokat egyéb,  $Na^+$ -hoz kapcsolt transzport mechanizmusok is kompenzálni képesek, mint például a  $Na^+-K^+$  pumpa, a  $Na^+-H^+$  cserélő vagy a  $Na^+-HCO_3^-$  kotranszporter. Ezek együtttvéve magyarázhatják, hogy miért nem tapasztaltunk szignifikáns korrelációt a késői nátriumáram és a nátrium-kalcium cserélő által szállított töltések mennyisége között.

Nem találtunk szignifikáns korrelációt a repolarizáló outward ionáramok paraméterei között sem. Azonban amikor az inward és outward ionáramok paramétereit egymással hasonlítottuk össze, megállapítottuk, hogy a befelé egyenirányító káliumáram gyors komponense ( $I_{Kr}$ ) és az L-típusú kalciumáram ( $I_{Ca,L}$ ) valamennyi paramétere, így a szállított töltésmennyiség, az áramamplitúdó és a plató közepén mért áramamplitúdó tekintetében is szignifikáns korreláció áll fenn. A jelenség hátterében az L-típusú kalciumcsatorna és a  $I_{Kr}$ -ért felelős KCNH2 fehérje ko-expressziója állhat, valamint az, hogy ezen fehérjék térszerkezetének kialakulása (folding) és a felszíni membránba történő kihelyeződése (trafficking) közösen történik. Ezeknek a mechanizmusoknak a megismerése azonban további vizsgálatokat igényel. Mivel az  $I_{Ca,L}$  és a  $I_{Kr}$  a plató fázis legnagyobb inward és outward áramai, a közöttük megfigyelt korrelációnak szerepe lehet az akciós potenciál időtartamának kialakításában és így az APD heterogenitásának csökkentésében.

Nem példa nélküli, hogy egy domináns outward áram arányos egy domináns inward árammal. Tengerimalacokban például, ahol a kutyával ellentétben a plató fázis során a fő repolarizáló áram a  $I_{Ks}$ , az L-típusú kalciumáram a  $I_{Ks}$ -vel korrelál és nem a  $I_{Kr}$ -vel. Más állatból származó preparátumokon, például sertésből vagy nyúlból származó kardiomiocitákon erős pozitív korrelációt figyeltek meg a késői nátriumáram és a  $I_{Kr}$  között. Ezek az eredmények ellentétesek az általunk, kutyákból származó szívizomsejteken mért eredményekkel. Úgy tűnik, hogy nyúl szívizomsejteken a  $I_{Na,L}$  ellensúlyozhatja a

$I_{Kr}$  -t az akciós potenciál platója során, azonban ezt a jelenséget kutyák szívizomsejtjein nem láttuk. Ezek az eredmények azt sugallják, hogy az egyes ionáramok közötti kapcsolatokban, korrelációkban szintén nagy interspecies különbségek lehetnek. A fő kérdés azonban, ami a humán kamrai miokardium ionáramai közötti korrelációkat érinti egyelőre megválaszolatlan.

*Az akciós potenciál terminális repolarizációja alatti ionáramprofilok időfüggése*

Az akciós potenciál terminális repolarizációja alatt lezajló események időzítése, lezajlása kiemelt jelentőséggel bír, hiszen a repolarizáció zavara, inhomogenitása szívritmuszavarok szubsztrátja lehet.

Az akciós potenciál feszültség-clamp technikával végzett kísérleteink eredményei kiemelik a  $I_{Kr}$  jelentőségét a szívizomsejtek repolarizációjában. Megállapítottuk, hogy az akciós potenciál 2. fázisa során a  $I_{Kr}$  még a  $V_{max}^-$  érték elérése előtt, míg a  $I_{K1}$  maximuma csak ez után figyelhető meg. Ezen felül a  $I_{Kr}$  áramcsúcsa kevésbé negatív membránpotenciál-értéknél következik be, mint a  $I_{K1}$  csúcs. Ebből arra következtethetünk, hogy a  $I_{Kr}$ , és nem pedig a  $I_{K1}$  az elindítója a terminális repolarizáció folyamatának, annak ellenére, hogy a  $I_{K1}$  jóval nagyobb áramdenzitással bír ebben a periódusában az akciós potenciálnak.

Ezt támasztják alá különböző farmakológiai vizsgálatok is: a  $I_{Kr}$  szelektív gátlószerei (E-4031 vagy dofetilid) kifejezett növekedést idéznek elő az 50%-os repolarizációnál mért akciós potenciál hossz (APD<sub>50</sub>) értékben. Ezzel szemben a  $I_{K1}$  gátló  $Ba^{2+}$  inkább az APD<sub>90</sub> értéket nyújtotta, ezáltal az akciós potenciál háromszög-alakúvá vált, ugyanakkor az APD<sub>50</sub> értékre alig volt hatással.

Meg kell említeni továbbá, hogy a  $I_{Kr}$  és a  $I_{K1}$  paramétereinek sajátosságai függetlenek az akciós potenciálok morfológiájától, illetve a frekvenciától kutya és humán kamrai szívizomsejteken. Ezt fontos szem előtt tartani, mivel az akciós potenciál és az ionáramok kapcsolatának bármilyen torzulása, ami például a kanonikus akciós potenciállal történő (sejtek saját akciós potenciál-ja helyett) ingerlésből eredhet, nem változtatja meg a  $I_{Kr}$  és a  $I_{K1}$  időbeli alakulását.

Az ionáramok profiljának vizsgálatakor megállapítottuk, hogy a  $I_{Ks}$  hamarabb aktiválódott és hamarabb érte el csúcsát, mint a  $I_{Kr}$ . Ez annak fényében érdekes, hogy ismert, hogy a  $I_{Kr}$ -hez viszonyítva a  $I_{Ks}$  pozitívabb feszültségtartományokban aktiválódik, és az aktivációs időállandója is nagyságrendekkel nagyobb. Depolarizáció során azonban a  $I_{Kr}$  gyorsan aktiválódik, majd azonnal inaktiválódik, így a  $I_{Kr}$  amplitúdója megközelítőleg nulla a kutya akciós potenciál első 40-50 milliszekundumában. A  $I_{Kr}$  csak ezt követően, amikor a membránpotenciál értéke kellően negatív, jelenik meg ténylegesen, mert ekkorra az ioncsatornák már visszatérnek inaktív állapotukból. Annak ellenére, hogy az akciós potenciál során a  $I_{Ks}$  hamarabb aktiválódik és éri el csúcértékét, mint a  $I_{Kr}$ , fiziológias körülmények között a szerepe elhanyagolható a terminális repolarizációban, hiszen az L-735,821 nevű szelektív  $I_{Ks}$  gátlószer nem befolyásolta szignifikánsan az APD értékeket nyugalmi körülmények között.

#### *Az ionáramok kalciumfüggése*

Kutatásunk során megvizsgáltuk három káliumáram, a  $I_{Kr}$ , a  $I_{Ks}$  és a  $I_{K1}$ , valamint a  $I_{Na,L}$  kalciumion-függését. Az intracelluláris kalciumkoncentráció változtatása nem befolyásolta sem a  $I_{K1}$ , sem pedig a  $I_{Kr}$  paramétereit, a  $I_{Ks}$  azonban kalciumérzékenynek bizonyult. A  $I_{Ks}$  gyorsabban érte el árammaximumát, az áram denzitása, illetve az áram által szállított töltés mennyisége szignifikánsan nagyobb volt fiziológias kalciumciklus mellett, mint amit az  $I_{Ca,L}$  gátlásakor mértünk. Kutya szívműködéseken a  $I_{Ks}$  kalciumszenzitivitását magyarázó mechanizmusok valószínűleg összetettek. A humán szívhez kevésbé hasonló állatmodelleken (pl. nyúl) a  $I_{Ks}$  kalciumérzékenységének hátterében a kalmodulin aktivitását írták le.

A  $I_{Ks}$  kalciumfüggése magyarázhatja, hogy az általunk mért  $I_{Ks}$  amplitúdók miért nagyobbak, mint az irodalmi adatok. Varró és munkatársai kísérleteiben az intracelluláris térrel kapcsolatba kerülő pipetta oldat kalcium-kelátorokat

tartalmazott, szemben a mi kísérleteinkkel, ahol ez nem volt jelen. Varró és munkatársai ilyen körülmények között 0,10 és 0,15 A/F  $I_{Ks}$  amplitúdót mértek, ezek az értékek megfelelnek az általunk  $I_{Ca,L}$  gátlást követően mért eredményeknek.

Néhány korábbi kísérleti eredménnyel szemben, kísérleteink során a befelé egyenirányító káliumáramot nem befolyásolta az  $I_{Ca,L}$  gátlása. A mi eredményeinkkel szemben, Nagy és munkatársai arról számoltak be, hogy az intracelluláris  $Ca^{2+}$  koncentráció emelkedése megnövekedett  $I_{K1}$  áramot eredményez kutya kamrai szívizomsejteken. Ez a hatás a CaMKII kalciumfüggő aktiválódásának és a  $I_{K1}$  ezzel egyidejű növekedésének tulajdonítható. Fontos azonban itt megjegyeznünk, hogy Nagy és munkatársainak kísérletei során az intracelluláris kalciumszintet különböző koncentrációjú EGTA-oldatokkal változtatták, ezzel szemben mi, a kísérleteink során, nem alkalmaztunk kalcium puffereket. Nagy és munkatársainak eredményeit áttekintve kitűnik, hogy  $I_{K1}$  amplitúdó növekedést csak az intracelluláris  $Ca^{2+}$  koncentráció tartós, kb. 900 nM koncentrációra történő emelése esetén tapasztalták. Tartósan magas intracelluláris  $Ca^{2+}$  koncentráció mellett ugyanis várható a CaMKII aktivitásának növekedése. Az is lehetséges, hogy a méréseink során a kalciumtranziensek hatására aktiválódó CaMKII  $I_{K1}$  növelő hatását ellensúlyozza az ioncsatorna kalciumfüggő befelé egyenirányító képességének az átmeneti növekedése, és ezért nem tapasztaltuk a  $I_{K1}$  kalciumfüggését.

Elsőként írtuk le, hogy fiziológias körülmények között az intracelluláris kalcium koncentráció jelentős hatással van a  $I_{Na,L}$ -re. A sejten belüli  $Ca^{2+}$  koncentráció 10 mM BAPTA intracelluláris alkalmazásával történő csökkentése, illetve az  $I_{Ca,L}$  1  $\mu$ M nifedipinnel történő gátlása is egyaránt szignifikánsan csökkentette mind a késői nátriumáram denzitását, mind pedig az áram által szállított töltés mennyiségét. Az akciós potenciál feszültség-clamp és a hagyományos feszültség-clamp körülmények között végzett mérések egyaránt igazolták a  $I_{Na,L}$  kalciumfüggését. Ezen felül megállapítottuk azt is, hogy a késői

nátriumáram kalciumfüggő szabályozása a CaMKII jelátviteli útvonalhoz kapcsolódik. A CaMKII jelátviteli útvonal KN-93-mal történő gátlása ugyanis a kalciumciklus megváltoztatásához (BAPTA vagy nizoldipin alkalmazása) hasonló módon szignifikánsan csökkentette az áram denzitását.

Általánosan elfogadott, hogy a KN-93 közvetlenül kötődik a CaMKII-höz, és ezáltal megakadályozza a kináz aktiválását a  $\text{Ca}^{2+}/\text{CaM}$ -mal való versengéssel. A legújabb adatok azonban arra utalnak, hogy a KN-93 közvetlenül a  $\text{Ca}^{2+}/\text{CaM}$ -hoz kötődik, és nem a CaMKII-höz. Bár a Wong és munkatársai által bemutatott hatásmechanizmus összhangban van azzal, hogy a KN-93-at funkcionális CaMKII-gátlónak tekintik, a  $\text{Ca}^{2+}/\text{CaM}$  szabályozás számos helyen való jelenléte felveti azt a kérdést, hogy a KN-93-mal végzett megfigyelések (mint például a mi eredményeink is) részben vagy egészben megmagyarázhatók-e  $\text{Ca}^{2+}/\text{CaM}$ -függő, de CaMKII-független gátlással.

Adatok vannak arról, hogy a  $\text{Ca}^{2+}$  maga szabályozhatja a nátriumcsatornákat, míg mások szerint a  $\text{Ca}^{2+}/\text{CaM}$  komplex szabályozza a feszültségfüggő nátriumcsatornák működését. Abban azonban konszenzus van, hogy a nátriumcsatornák egyensúlyi inaktivációs görbéje a pozitívabb feszültségértékek felé tolódik el, magasabb intracelluláris  $\text{Ca}^{2+}$  koncentráció esetén. Egy kis mértékű változás az egyensúlyi inaktivációs görbén elegendő lehet egy nagyobb  $I_{\text{Na,L}}$  előidézéséhez a fiziológias kalciumháztartású szívműködéseken, szemben a nizoldipinnel, BAPTA-val vagy KN-93-mal előkezelt szívműködéseken.

Az L-típusú kalciumcsatorna gátló szereket (például nizoldipin) gyakran használják különböző szívre specifikus L-típusú kalciumáramot célzó farmakonok hatásának egymástól való elkülönítésére. Ebben az esetben érdemes észben tartani, hogy ezek a gátlószeretek nem csak az  $I_{\text{Ca,L}}$ -t gátolják önmagában, hanem megváltoztathatják a szívműködés intracelluláris  $\text{Ca}^{2+}$  koncentrációját is. Ebből következik, hogy az L-típusú kalciumcsatornát blokkoló farmakonok

módosíthatják az összes  $\text{Ca}^{2+}$ -függő folyamatot, például a CaMKII-aktivitást és ezzel együtt a  $\text{Ca}^{2+}$ -függő ionáramok paramétereit, beleértve a  $I_{\text{Na,L}}$ -t is.

### **Az értekezésben szereplő új kutatási eredmények**

1. A humán szívizom legjobb elektrofiziológiai modelljének tartott kutya szívizomsejteken elsőként írtuk le, hogy szignifikáns korreláció van az  $I_{\text{Ca,L}}$  és a  $I_{\text{NCX}}$  által szállított töltésmennyiség, továbbá az  $I_{\text{Ca,L}}$  és a  $I_{\text{Kr}}$  által szállított töltésmennyiség, valamint maximális- és plató közepén mért áramdenzitás tekintetében.

2. Kutya kamrai szívizomsejteken igazoltuk, hogy a késői egyenirányító káliumáram lassú komponense ( $I_{\text{Ks}}$ ) erőteljes kalciumfüggést mutat.

3. Megállapítottuk, hogy a depolarizáló ionáramok közül a késői nátriumáram ( $I_{\text{Na,L}}$ ) szintén jelentős kalciumfüggő viselkedést mutat, melynek hátterében a CaMKII útvonal aktivitásának változása állhat.

4. Megállapítottuk, hogy kutya kamrai szívizomsejteken a terminális repolarizáció során a  $V_{\text{max}}^-$ -hoz viszonyítva a  $I_{\text{Kr}}$  11 ms-mal előbb, míg a  $I_{\text{K1}}$  attól 3,5 ms-al később érte el maximumát. Ezek alapján feltételezzük, hogy fiziológias körülmények között a terminális repolarizáció elindításáért a  $I_{\text{Kr}}$  lehet a felelős, mely így meghatározza az akciós potenciál hosszát.

## Összefoglalás

A szívizomsejtek elektromos működését számos ioncsatorna finoman összehangolt működése alakítja ki. Ha ez a szorosan szabályozott rendszer valami miatt meg bomlik, az súlyos, sokszor fatális kimenetelű szívritmuszavarokhoz vezethet. Az aritmia-kutatások sora foglalkozik a szívizomsejtek ionáramaival. Ezek a kísérletek azonban többnyire rágcsáló-modelleken készültek, hagyományos, négyszögimpulzusokat alkalmazó elektrofiziológiai technikákkal. Ezen felül sokszor a fiziológias környezettől eltérő körülmények mellett zajlottak ezek a mérések (pl. szobahőmérséklet,  $\text{Ca}^{2+}$ -kelátor alkalmazása stb.).

Munkánk célja volt, hogy megvizsgáljuk a kamrai szívizomsejtek akciós potenciál-ját kialakító ionáramok profilját, és azok egymáshoz való viszonyát, paramétereik között korrelációk után kutatva. Vizsgáltuk továbbá az egyes ionáramok működését fiziológias kalciumciklus mellett, valamint gátolt L-típusú kalciumáram esetén. Mindezt a fiziológias körülményeket a lehető legjobban szimulálva végeztük, a humán szív legjobb elektrofiziológiai modelljeként számontartott kutyaszíven.

A kísérletek során akciós potenciál feszültség clamp technikával meghatároztuk az egyes ionáramok akciós potenciál alatti profilját. Az onion-peeling módszer segítségével ugyanazon a szívizomsejten több ionáramot tudtunk vizsgálni, így még pontosabb képet kapva működésükről. Az akciós potenciál időtartamának változásait hagyományos hegyes elektródás akciós potenciál mérésekkel vizsgáltuk. Kalciumtranziens- és sejthossz-rövidülés méréseket végeztünk a kalciumciklus változásainak regisztrálására.

Kutatásaink során szignifikáns korrelációt találtunk a késői egyenirányító káliumáram gyors komponense ( $I_{Kr}$ ) és az L-típusú kalciumáram ( $I_{Ca,L}$ ) által szállított töltésmennyiség, valamint az áramamplitúdó és a plató közepén mért áramdenzitás tekintetében. A nátrium-kalcium csereáram ( $I_{NCX}$ ) és az  $I_{Ca,L}$  által szállított töltésmennyiség között szintén szignifikáns kapcsolat igazolódott. Megállapítottuk, hogy a késői egyenirányító káliumáram lassú komponense ( $I_{Ks}$ ),

valamint a késői nátriumáram ( $I_{Na,L}$ ) erős kalciumfüggést mutat. A késői nátriumáram esetében az áram kalciumfüggésének hátterében a CaMKII útvonal szerepét igazoltuk.

Eredményeink rávilágítanak a szív elektromos működésének komplexitására. A vizsgált áramok pontosabb ismerete közelebb vihet ahhoz, hogy még jobban megismerjük az aritmiák kórélettanát és megfelelő terápiás célpontot találjunk a különböző szívritmuszavarok kezelésére.

### **Kulcsszavak**

szívelektrofiziológia, késői nátriumáram,  $I_{Ks}$ ,  $I_{Kr}$ ,  $I_{K1}$ , NCX, L-típusú kalciumáram, szívizomsejt, APVC, CaMKII, kamrai ritmuszavarok



Nyilvántartási szám: DEENK/531/2021.PL  
Tárgy: PhD Publikációs Lista

Jelölt: Kiss Dénes Zsolt  
Doktori Iskola: Molekuláris Orvostudomány Doktori Iskola  
MTMT azonosító: 10072706

### A PhD értekezés alapjául szolgáló közlemények

1. Horváth, B.\* **Kiss, D. Z.\***, Dienes, C., Hézső, T., Kovács, Z., Szentandrassy, N., Almássy, J., Magyar, J., Bányász, T., Nánási, P. P.: Ion current profiles in canine ventricular myocytes obtained by the "onion peeling" technique.  
*J. Mol. Cell. Cardiol.* 158, 153-162, 2021.  
DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.yjmcc.2021.05.011>  
\* These authors contributed equally this work.  
IF: 5 (2020)
2. **Kiss, D. Z.\***, Horváth, B.\*, Hézső, T., Dienes, C., Kovács, Z., Topal, L., Szentandrassy, N., Almássy, J., Prorok, J., Virág, L., Bányász, T., Varró, A., Nánási, P. P., Magyar, J.: Late Na<sup>+</sup> Current Is [Ca<sup>2+</sup>]<sub>i</sub>-Dependent in Canine Ventricular Myocytes.  
*Pharmaceuticals (Basel)*. 14 (11), 1-16, 2021.  
DOI: <http://dx.doi.org/10.3390/ph14111142>  
\* These authors contributed equally this work.  
IF: 5.863 (2020)





**További közlemények**

3. Dienes, C., Hézső, T., **Kiss, D. Z.**, Baranyai, D., Kovács, Z. M., Szabó, L., Magyar, J., Bányász, T., Nánási, P. P., Horváth, B., Gönczi, M., Szentandrassy, N.: Electrophysiological Effects of the Transient Receptor Potential Melastatin 4 Channel Inhibitor (4-Chloro-2-(2-chlorophenoxy)acetamido) Benzoic Acid (CBA) in Canine Left Ventricular Cardiomyocytes. *Int. J. Mol. Sci.* 22 (17), 9499, 2021.  
DOI: <http://dx.doi.org/10.3390/ijms22179499>  
IF: 5.923 (2020)
4. Hézső, T., Naveed, M., Dienes, C., **Kiss, D. Z.**, Prorok, J., Árpádfy, L. T., Varga, R., Fujii, E., Mercan, T., Topal, L., Kistamás, K., Szentandrassy, N., Almássy, J., Jost, N., Magyar, J., Bányász, T., Baczkó, I., Varró, A., Nánási, P. P., Virág, L., Horváth, B.: Mexiletine-like cellular electrophysiological effects of GS967 in canine ventricular myocardium. *Sci. Rep.* 11, 1-11, 2021.  
DOI: <http://dx.doi.org/10.1038/s41598-021-88903-3>  
IF: 4.379 (2020)
5. Horváth, B., Hézső, T., **Kiss, D. Z.**, Kistamás, K., Magyar, J., Nánási, P. P., Bányász, T.: Late Sodium Current Inhibitors as Potential Antiarrhythmic Agents. *Front. Pharmacol.* 11, Article 413, 2020.  
DOI: <http://dx.doi.org/10.3389/fphar.2020.00413>  
IF: 5.81

**A közlő folyóiratok összesített impakt faktora: 26,975**

**A közlő folyóiratok összesített impakt faktora (az értekezés alapjául szolgáló közleményekre): 10,863**

A DEENK a Jelölt által az iDEa Tudóstérbe feltöltött adatok bibliográfiai és tudományterületi ellenőrzését a tudományos adatbázisok és a Journal Citation Reports Impact Factor lista alapján elvégezte.

Debrecen, 2021.12.16.

